

**Die Bestimmung von Größe und Anzahl
von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven
in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer**

Helga Hübner

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553812_0058

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität
München

(Direktor: Prof. Dr. med. G. Heberer)

Die Bestimmung von Größe und Anzahl von
Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonser-
ven in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

HELGA HÜBNER

aus Erlangen

Berichterstatter : Prof.Dr. Georg Heberer

Mitbereichterstatter : Priv.-Doz.Dr. F.W.Schildberg

Dekan : Prof.Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen

Prüfung : 26.10.1976



Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Herrn Professor Dr. med. G. Heberer spreche ich für die Überlassung des Themas und die wertvolle Beratung bei dieser Arbeit meinen Dank aus.

Herrn Dr. med. K.L. Lauterjung möchte ich für die Unterstützung sowie die vielen Anregungen und Diskussionen danken.

Frau E. Hamann danke ich für die Hilfe bei der technischen Durchführung der experimentellen Untersuchungen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik	4
1. Meßprinzip	4
2. Theoretisch-mathematische Ableitung der Größenverteilungskurven von Thrombozytenaggregaten	5
3. Versuchsanordnung	9
4. Experimentelle Verifizierung der theoretisch-mathematischen Erklärung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung	10
5. Graphische Auswertung der Impulshöhen- Häufigkeitsverteilung	11
6. Experimentelle Bestimmung der Abhängig- keit der Steigung a_h der Funktion $N = N_{h_0} \cdot e^{-a_h}$ von der Höhe des Häma- tokrits	14
7. Experimentelle Untersuchung zur Bestim- mung der mittleren Größe $\bar{G}$ von Thrombo- zytenaggregaten	15
a) Bestimmung der wahren Aggregatgröße durch Filtration	15
b) Bestimmung der wahren Aggregatgröße durch elektronische Längenbestimmung der Aggregate	17
8. Technisch bedingte Einflüsse auf die Gestalt der Größenverteilung von Throm- bozytenaggregaten	20
a) Temperatur	20
b) Zeitintervall zwischen Entnahme des Blutes aus der Blutkonserve und Bestim- mung der Größenverteilung	21

	Seite
c) Länge des Schlauches zwischen Blutprobe und Meßsystem	22
9. Untersuchungen über die Bildung von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven verschiedener Lagerungsdauer	23
III. Ergebnisse	25
1. Veränderung des Hämatokrits in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der ACD-Blutkonserven	25
2. Veränderung der Gestalt der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven	25
3. Veränderung der Steigung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven	26
4. Veränderung der Anzahl von Thrombozytenaggregaten aller Größen in Abhängigkeit der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven	26
5. Veränderung der mittleren Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven	27
IV. Die Verwendung der Meßmethode zur Beurteilung der Güte von Blutfiltern	28

	Seite
V. Diskussion	31
1. Zur Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate von der Zeit zwischen der Abnahme des Blutes aus der ACD-Blutkonserve und von der Temperatur	33
2. Zum zeitlichen Verlauf der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate	36
3. Pathophysiologische Bedeutung der erhobenen Befunde	39
VI. Zusammenfassung	42
VII. Abbildungen	45
VIII. Literaturverzeichnis	65

I. Einleitung

Trotz der Verwendung kolloidaler Lösungen als Blutersatz und des Versuchs der akuten präoperativen Hämodilution und Autotransfusion kann in der Chirurgie noch nicht auf die Transfusion von Vollblut verzichtet werden (35,36).

In zahlreichen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß der Blutersatz durch Vollblut immer noch mit zahlreichen Komplikationen behaftet ist, die durch die Veränderung des Blutes in der ACD-Blutkonserve während der Lagerungsdauer hervorgerufen werden.

Dabei werden u.a. als Komplikationen genannt: anaphylaktischer Schock, Hypothermie (5,48), Abfall des Herz-Zeit-Volumens (33), Herzrhythmusstörungen (6,35), Hyperkaliämie (42), metabolische Acidose (6), Thrombozytopenie (16,18), Verbrauchskoagulopathie (49), generalisierte intravasculäre Gerinnung (18), pulmonaler Hypertonus mit respiratorischer Insuffizienz (3), hämolytische Transfusionszwischenfälle (7).

Die in der Literatur angegebenen Komplikationen haben eine hohe Letalität zur Folge, deren Ausmaß von der Menge des transfundierten Blutes abhängig ist (49).

Folgende weitere Faktoren können das Risiko von Bluttransfusionen beeinflussen:

1. Alter des Patienten zum Zeitpunkt der Transfusion (54).

2. Lokalisation der Grunderkrankung (54).
3. Metabolische Veränderungen im gelagerten Blut (16).
4. Veränderungen der Elektrolyte im Konservenblut (6,16,33,38).
5. Hoher Zitratgehalt im Konservenblut (6,16,47,49).
6. Veränderungen im Gerinnungssystem durch Transfusion von ACD-Blut (6,14,16,18,37).
7. Transfusionshepatitis (45).
8. Veränderungen der korpuskulären Bestandteile des gelagerten Blutes (Erythrozyten-Schädigung) (49).

Auch wird ein negativer Einfluß auf die sich während der Lagerung bildenden Aggregate diskutiert. Mehrere Untersucher konnten eine Vermehrung von Aggregaten in der alternden Blutkonserve nachweisen (3,10,15,16,29,40,51). Nach SWANK (50) bestehen diese Aggregate vorwiegend aus Thrombozyten mit in größeren Aggregaten angelagertem Fibrin und einigen Leukozyten mit einem Durchmesser zwischen 50 und 100 μ .

Gelangen diese Aggregate bei der Transfusion in die Lunge, so werden sie von diesem Organ gefiltert. Dabei können Lungenkapillaren verlegt werden, wodurch eine Minderperfusion der Lunge hervorgerufen wird (10,20,21,25,27, 40,41).

Gerade in der Herzchirurgie, wo große Mengen von Blut, bedingt durch die extracorporale Zirkulation, transfundiert werden müssen,

konnte der Einfluß der Transfusion von Microthromben, bestehend aus Thrombozytenaggregaten in der ACD-Blutkonserve, auf die Kreislauffunktionen untersucht werden (19,22,26).

Die bisherigen Erkenntnisse über die Entstehung von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven wurden vor allem mit der Siebdruckmethode nach SWANK gewonnen (1,29,50).

So konnten alle Autoren eine Zunahme des Siebdrucks während der Lagerung der ACD-Blutkonserve beobachten (17,29,40,50). Der zeitliche Verlauf der Aggregatbildung im ACD-Blut wird in den vorliegenden Untersuchungen verschieden angegeben (17,29,50).

Bisher war nur eine Korrelation zwischen Grösse der Aggregate und dem Siebdruck herzustellen (12). In der vorliegenden Arbeit soll mit Hilfe der schon früher beschriebenen photometrischen Methode die Kinetik der Aggregatbildung untersucht werden (2,30). Dabei wird eine neue Versuchsanordnung angewendet, die eine Bestimmung der Größenverteilung der Aggregate in ACD-Blut erlaubt und eine mathematische Beschreibung von Grösse und Anzahl der sich in der Blutkonserve bildenden Aggregate ermöglicht.

II. Methodik

1. Meßprinzip

Wird Blut durch eine englumige (100 - 400 μ), durchsichtige Kapillare geschickt, so können mit einer Photodetektoranordnung Lichttransparenz-Unterschiede des fließenden Blutes festgestellt werden.

Zweckmäßigerweise wird bei einer Versuchsanordnung das Bild der Kapillare vergrößert auf eine Mattscheibe projiziert. Eine Photodetektoranordnung mit schlitzförmiger Blende, welche rechtwinklig zur Strömungsrichtung des Blutes angeordnet ist, registriert die Helligkeitsunterschiede, hervorgerufen durch die Erythrozytensuspension (2). Diese Helligkeitsunterschiede werden durch unterschiedliche Packungsdichten der im Vergleich zum Blutplasma weniger transparenten roten Blutkörperchen hervorgerufen (Abb. 1). Als Maß für die Transparenz kann die vom Photodetektor abgegebene und in einer Verstärkeranordnung verstärkte elektrische Spannung verwendet werden.

Die durch die Kapillare im fließenden Blut auftretenden Thrombozytenaggregate unterscheiden sich von der sie umgebenden Erythrozytensuspension durch eine höhere Lichttransparenz (Abb. 1). Bei entsprechender optischer Vergrößerung erscheinen die Thrombozytenaggregate als helle Kugeln (Abb. 2). Da diese transparenten Aggregate die weniger transparente Erythrozytensuspension in der Kapillare räumlich verdrängen, wird

von der Photodetektoranordnung bei der Passage eines Aggregats durch die Kapillare eine erhöhte Lichttransparenz registriert und als elektrischer Spannungsimpuls an die Verstärkerordnung abgegeben. Da die Anzahl der vom Aggregat verdrängten, weniger transparenten roten Blutzellen von dem Volumen und somit vom Durchmesser des Aggregats abhängig ist, kann der vom Photodetektor abgegebene Spannungsimpuls als Maß für die Größe des Aggregats betrachtet werden.

2. Theoretisch-mathematische Ableitung der Größenverteilungskurven von Thrombozytenaggregaten

Wird ein konstantes Blutvolumen mit einem definierten Hämatokrit angenommen, welches die Kapillare passiert, so ist die Anzahl N gleicher transparenter Stellen in der Erythrozytensuspension konstant.

Von einem Photodetektor wird daher eine konstante Anzahl gleich hoher elektrischer Spannungsimpulse an eine geeignete Registrieranordnung abgegeben werden. Erhöht sich die Anzahl transparenter Stellen, z.B. durch Erniedrigung des Hämatokrits, so werden diese transparenten Stellen im konstanten Blutvolumenelement an räumlicher Ausdehnung zunehmen. Unter optischer Vergrößerung wäre diese Situation durch größere Plasmalücken zwischen den roten Blutkörperchen in der Kapillare gekennzeichnet.

Der Photodetektor wird unter dieser veränderten Bedingung eine geringere Anzahl höherer

elektrischer Spannungsimpulse an die Registrieranordnung abgeben.

Die Abhängigkeit der Veränderung der Grösse der transparenten Stellen in der Erythrozytensuspension von deren Anzahl läßt sich mathematisch formulieren:

$$I. - \frac{dN}{N} = a \cdot dG$$

In dieser Gleichung bedeutet N die Anzahl und G die geometrische Ausdehnung transparenter Stellen im Blut.

In bezug auf die vom Photodetektor abgegebenen elektrischen Impulse ist N die Anzahl der Impulse und G die Amplitude der elektrischen Spannungsimpulse.

Durch Integration wird aus der Gleichung I

$$\int \frac{dN}{N} = -a \cdot G + K$$

oder

$$\ln N = -a \cdot G + K$$

K ist die Integrationskonstante für deren Bestimmung für N_0 : $G=0$ eingesetzt wird.

Man erhält somit

$$\ln \frac{N}{N_0} = -a \cdot G$$

oder durch Umformung

$$II. N = N_0 \cdot e^{-a \cdot G}$$

Es folgt daraus:

Die Größenverteilung $N (G)$ transparenter Stellen in dem eine Kapillare durchfließenden Blut ist eine monoexponentielle Funktion.

Werden diese transparenten Stellen von einer Photodetektoranordnung wiedergegeben, so gehorcht die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung einer monoexponentiellen Funktion. Betrachtet man die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung der vom Photodetektor abgegebenen elektrischen Impulse zweier unterschiedlicher Populationen in bezug auf transparente Stellen im Blut, zum einen hervorgerufen durch Plasmalücken, zum anderen hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate, so sollte die Funktion dieser Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung der Summe aus zwei Exponentialfunktionen entsprechen.

$$\text{III. } N = N_{hO} \cdot e^{-a_h \cdot G} + N_{eO} \cdot e^{-a_e \cdot G}$$

In dieser Gleichung bedeutet

N_e : Anzahl der photoelektrischen Impulse,
hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate.

N_h : Anzahl der photoelektrischen Impulse,
hervorgerufen durch Plasmalücken in der Erythrozytensuspension.

a_e und a_h sind Konstanten, die die Steigungen beider Teile der Funktion $N_{hO} \cdot e^{-a_h \cdot G}$ und $N_{eO} \cdot e^{-a_e \cdot G}$ angeben.

Die Größe von a_h sollte von der Höhe des Hämatokrits, die Größe a_e von der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate abhängig sein.

Aus der Gleichung III. läßt sich durch Integration leicht die Anzahl aller Thrombozytenaggregate berechnen.

$$\text{IV. } \int dN = N_0 \int_0^{G_{\max}} e^{-a_e \cdot G} \cdot dG$$

daraus folgt:

$$N = N_0 \cdot \left[-\frac{1}{a_e} \cdot e^{-a_e \cdot G_{\max}} \right]$$

oder

$$\text{V. } N = \frac{N_0}{a_e} \cdot \left[1 - e^{-a_e \cdot G_{\max}} \right]$$

Die mittlere Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate läßt sich bestimmen:

$$\bar{G} = \frac{N}{N_0}$$

oder

$$\text{VI. } \bar{G} = \frac{1}{a_e} \cdot \left[1 - e^{-a_e \cdot G_{\max}} \right]$$

3. Versuchsanordnung (Abb. 3)

Das auf Thrombozytenaggregate zu untersuchende Blut wird mittels einer Spritzenpumpe (Perfusor: Fa. Braun Melsungen) durch eine silikonisierte Glaskapillare (innerer Durchmesser $280\text{ }\mu$) aus einem Reagenzglas gesaugt ($1\text{--}22\text{ ml/min.}$). Das Reagenzglas steht in einem Wasserbad, dessen Temperatur konstant gehalten werden kann. Um eine Sedimentation des Blutes während des 6 Minuten dauernden Meßvorgangs zu verhindern, wird das Blut im Reagenzglas mittels eines silikonisierten Glasstabs kontinuierlich gerührt (Rührgeschwindigkeit 100 U/min.).

Das Bild der Kapillare wird durch ein Mikroskop 20-fach vergrößert auf eine Mattscheibe projiziert.

Rechtwinklig zur Strömungsrichtung des Blutes in der Kapillare ist der Photodetektor (Photoelement BPY II) schlitzförmig ausgeblendet angeordnet.

Nach 10 000-facher elektronischer Verstärkung durch einen linearen Wechselspannungsverstärker können die vom Photodetektor angegebenen elektrischen Impulse auf einem Kathodenstrahloszilloskop dargestellt werden. Den im Blut auftretenden Thrombozytenaggregaten entsprechen elektrische Impulse auf dem Schirm des Oszilloskops (Abb. 4).

Die Amplituden der Impulse, die von großen Aggregaten hervorgerufen werden, ist deutlich höher als die Amplitude der Impulse,

welche von der die Aggregate umgebenden Erythrozytensuspension hervorgerufen wird.

Die elektrischen Impulse werden einem 100-Kanal-Impulshöhenanalysator (Coulter Channelyzer) zugeführt. Der Impulshöhenanalysator addiert jeweils Impulse gleicher Amplituden in einem der 100 Kanäle. Die Kanäle sind nach ansteigenden Impulshöhen von 0-100 angeordnet. Die so gewonnene Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung kann auf einem Bildschirm dargestellt und photographiert werden (Abb. 5). Gleichzeitig kann nach Abschluß der Messung die Anzahl der Impulse in jedem Kanal durch einen Drucker (Teletype) numerisch angegeben werden. Ferner zeichnet ein XY-Schreiber die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung auf.

4. Experimentelle Verifizierung der theoretisch-mathematischen Erklärung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung

Wird von einer Erythrozytensuspension, welche keine Thrombozytenaggregate enthält, die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung durch die beschriebene Meßanordnung aufgenommen und im halblogarithmischen Koordinatensystem dargestellt, so ergibt diese Verteilung eine Gerade $N_h (G)$ (Abb. 6). Wird zu diesem Blut eine Thrombozyten aggregierende Substanz (z.B. ADP oder Kollagen) hinzugegeben und die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung im halblogarithmischen Koordinatensystem dargestellt, so stellt sich diese Häufigkeitsverteilung als eine mit zunehmender Kanalzahl flacher werdende Kurve $N (G)$ dar, die im Bereich höherer Kanalzahlen in die Gerade $N_e (G)$ übergeht.

Wird das aggregatreiche Blut durch Glaswolle gefiltert, um die Thrombozytenaggregate zu entfernen und von diesem Blut erneut die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung bestimmt, so zeigt sich im halblogarithmischen Koordinatensystem erneut die Gerade $N_h (G)$, welche durch die Erythrozytensuspension vor der Zugabe aggregierender Substanzen bestimmt wurde. Daraus kann gefolgert werden:

Im halblogarithmischen Koordinatensystem stellt die Gerade $N_h (G)$ allein die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch die Erythrozytensuspension dar.

Die Gerade $N_e (G)$ stellt allein die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung hervorgerufen durch die Thrombozytenaggregate dar. Die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung $N (G)$ entspricht somit der Summe aus den beiden Funktionen $N_h (G)$ und $N_e (G)$.

$$N (G) = N_{h_0} \cdot e^{-a_h \cdot G} + N_{e_0} \cdot e^{-a_e \cdot G},$$

wie sie schon in der theoretisch-mathematischen Ableitung der Beziehung zwischen Impulshöhe und Impulszahl postuliert wurde.

5. Graphische Auswertung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung

Um den für diese Untersuchung interessierenden Anteil $N_{e_0} \cdot e^{-a_e \cdot G}$ der Funktion $N (G)$, die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung der Thrombozytenaggregate aus der gesamten Impuls-

höhen-Häufigkeitsverteilung $N (G)$ zu bestimmen, kann mit hinreichender Genauigkeit eine Gerade durch den linearen Anteil der Kurve $N (G)$ in den höheren Kanalzahlen im halblogarithmischen Koordinatensystem gezogen werden.

Die Gerade $N_h (G)$ kann dann durch die Subtraktion $N (G) - N_e (G)$ gewonnen werden.

Die Geraden $N_e (G)$ und $N_h (G)$ sind durch N_{h0} und a_h bzw. N_{e0} und a_e determiniert.

N_{h0} und N_{e0} lassen sich in den Schnittpunkten der Geraden $N_e (G)$ und $N_h (G)$ mit der Ordinate (N-Achse) bestimmen.

Die beiden Konstanten a_h und a_e berechnen sich durch die Beziehung

$$a_h = \frac{\ln 2}{G_{h1}^{\frac{1}{2}}} \quad \text{und} \quad a_e = \frac{\ln 2}{G_{e1}^{\frac{1}{2}}}$$

wobei $G_{h1}^{\frac{1}{2}}$ die Stellen auf der Abszisse darstellen, an denen gilt:

$$N_{h1}^{\frac{1}{2}} = \frac{N_{h0}}{2} \quad \text{und} \quad N_{e1}^{\frac{1}{2}} = \frac{N_{e0}}{2}$$

Interpretation der aus der Verteilungskurve gewonnenen Parameter a_h und a_e :

a_h , die Steigung der Geraden im halblogarithmischen Koordinatensystem, welche die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch die Erythrozytensuspension, darstellt, ist abhängig vom Hämatokrit des Blutes.

Bei hohem Hämatokrit wird der Photodetektor viele kleine und wenig große Plasmalücken in der Erythrozytensuspension wahrnehmen. Die Gerade $N(G) = N_{h0} \cdot e^{-a_h \cdot G}$ wird somit einen steilen Verlauf nehmen.

Bei niedrigem Hämatokrit wird der Photodetektor weniger kleine und mehr größere Plasmalücken in der Erythrozytensuspension wahrnehmen, somit mehr große und weniger kleine elektrische Impulse an den 100-Kanal-Impulshöhenanalysator abgeben. Die Gerade $N_h(G) = N_{h0} \cdot e^{-a_h \cdot G}$ wird daher einen flachen Verlauf haben.

Der absolute Wert $|a_h|$ sollte direkt proportional zum Hämatokrit sein.

a_e , die Steigung der Geraden im halblogarithmischen Koordinatensystem, welche die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung hervorgerufen durch die Thrombozytenaggregate darstellt, ist von der Größenverteilung der Aggregate abhängig. Blut, welches viele kleine und wenig große Aggregate enthält, wird durch eine Gerade mit steilem Verlauf im halblogarithmischen Koordinatensystem charakterisiert.

Mit Zunahme der Anzahl großer Aggregate wird der absolute Wert $|a_e|$ kleiner, die Gerade $N_e(G) = N_{e0} \cdot e^{-a_e \cdot G}$ wird einen flacheren Verlauf nehmen.

Entsprechend wird die mittlere Größe $\bar{G}$ der Aggregate, ausgedrückt als mittlere Kanalzahl auf den 100-Kanal-Impulshöhenanalysator, für flachere Impulshöhenverteilungen zunehmen, da für 100 Kanäle gilt:

$$\bar{G} = \frac{1}{a_e} \cdot \left[1 - e^{-100 \cdot a_e} \right]$$

6. Experimentelle Bestimmung der Abhängigkeit
der Steigung a_h der Funktion $N = N_{h0} \cdot e^{-a_h}$
von der Höhe des Hämatokrits

Blut aus einer ACD-Blutkonserve wurde scharf zentrifugiert und ein Teil der Erythrozyten mittels einer Pipette vom Grund des Zentrifugenröhrchens abgesaugt. Es wurde darauf geachtet, keinen Anteil des "buffy coat" mitzupipettieren.

Das Volumen an Erythrozyten wurde nun mit 5%igem Humanalbumin verdünnt und erneut zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde viermal wiederholt, so daß am Ende ausreichend rein gewaschene Erythrozyten vorlagen.

Es wurden Erythrozytensuspensionen mit Hämatokritwerten von 6%, 12%, 16%, 30% und 55% durch Verdünnen des Erythrozytenkonzentrats mit 5%iger Humanalbuminlösung hergestellt.

Von jeder Erythrozytensuspension wurde fünfmal die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung aufgenommen. Diese stellte für jeden Hämatokritwert der Suspension, aufgetragen im halblogarithmischen Koordinatensystem, eine Gerade dar. Mit zunehmenden Hämatokritwerten nahm die Steigung dieser Geraden zu.

Zur Bestimmung der Steigung a_h der Funktion $N_h = N_{h0} \cdot e^{-a_h}$ wurde mit Hilfe des Prinzips der kleinsten Fehlerquadrate eine exponentielle Kurvenanpassung vorgenommen und

a_h bestimmt. Das Bestimmtheitsmaß r^2 dieser Kurvenanpassung war für alle Hämatokritwerte $r^2 = 0,98$. Wird die Größe a_h gegen den Hämatokritwert aufgetragen, so ergibt sich ab einem Hämatokrit von 16% ein linearer Zusammenhang zwischen beiden Größen (Abb. 7).

7. Experimentelle Untersuchung zur Bestimmung der mittleren Größe $\bar{G}$ von Thrombozytenaggregaten

a. Bestimmung der wahren Aggregatgröße durch Filtration

Wird die Impulshöhenhäufigkeitsverteilung der in einer Erythrozytensuspension auftretenden Thrombozytenaggregate bestimmt, so kann zwar die mittlere Größe $\bar{G}$ der Aggregate ausgedrückt in Kanal N^0 mittels der Versuchsanordnung angegeben werden (s. S. 13); über die geometrischen Dimensionen wie Durchmesser oder Volumen der Aggregate kann keine Aussage gemacht werden. Eine Eichung der Meßanordnung mit transparenten Partikeln verbietet sich wegen ihrer unbekannten optischen Eigenschaften.

Es ist daher naheliegend, die Meßanordnung dadurch zu eichen, daß eine Aggregatpopulation durch Filtration durch Filter verschiedener definierter Porengröße in ihrer Anzahl reduziert wird.

Es ist bei dieser Überlegung davon auszugehen, daß ein Thrombozytenaggregat mit einem größeren Durchmesser als die Porengröße des Filters diesen nicht mehr passieren kann.

Der mittlere Aggregatdurchmesser $\bar{G}$ sollte somit der Porengröße der verwendeten Filter entsprechen. Blut aus einer 14 Tage alten ACD-Blutkonserve mit einer hohen Konzentration an Thrombozytenaggregaten verschiedener Größe wurde unter einem Druck von 2 cm Wassersäule durch Nylonfilter mit den Porengrößen 24 μ , 38 μ , 108 μ , 119 μ , 170 μ , 200 μ , 280 μ und 472 μ gefiltert.

Das aufgefangene Blut wurde dann durch die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch die Thrombozytenaggregate, bestimmt. Aus dieser Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung konnte rechnerisch die mittlere Größe $\bar{G}$, ausgedrückt in Kanalnummern ($K.N^{\circ}$), errechnet werden. Wird die mittlere Größe $\bar{G}$ gegen den Porendurchmesser D aufgetragen, so ergibt sich ein bis zum Kurvendurchmesser von 200 μ linearer Zusammenhang; im weiteren Verlauf, zu höheren Porendurchmessern hin, wird die Kurve flacher und nimmt im Bereich zwischen 280 μ und 472 μ einen fast horizontalen Verlauf (Abb. 8). Die Interpretation dieser Eichkurve, besonders des nicht linearen Teil der Kurve zu höheren Kurvendurchmessern hin, läßt zwei Deutungen zu:

- 1 a. Da der Kapillardurchmesser 280 μ beträgt, in der Eichkurve aber Aggregate mit einem durch diese Eichenordnung bestimmten Durchmesser von 472 μ vorkommen, die aufgrund ihrer Größe die Kapillare nicht mehr passieren können, ließe sich der Knick in der Eichkurve als Ausdruck einer plastischen Verformung der Aggregate bei der Passage interpretieren. In bezug auf die Im-

pulshöhen-Häufigkeitsverteilung würde diese Interpretation bedeuten, daß Aggregate verschiedener Größe ähnliche Impulshöhen dann hervorrufen, wenn die Größe der Aggregate dem Durchmesser der Kapillare entsprechen oder ihn übersteigen.

- 2.a. Auch Aggregate mit einem kleineren Durchmesser als der der Poren des benutzten Filters werden von dem Filter an dessen Passage gehindert.

Wegen der Unsicherheit einer gültigen Interpretation der Gestalt der Eichkurve wurde eine andere Methode zur Bestimmung der wahren Größe der Thrombozytenaggregate benutzt.

- b. Bestimmung der wahren Aggregatgröße durch elektronische Längenbestimmung der Aggregate

Da der Fluß des Blutes durch die Kapillare wegen der Konstanz der Spritzenpumpe vorgegeben ist, kann aus der Impulsbreite des vom Thrombozytenaggregat in der Meßanordnung hervorgerufenen elektrischen Impulses die Länge des Aggregats berechnet werden (30).

Ist Δl die Länge des Aggregates, r der Radius der Kapillare und Δt die Impulsbreite des von der Versuchsanordnung abgegebenen elektrischen Impulses, V das Volumen Blut in der Zeiteinheit, welches von der Spritzenpumpe durch die Kapillare gedrückt wird, so errechnet sich die Länge Δl folgendermaßen:

$$\Delta l = \frac{V \cdot \Delta t}{r^2 \cdot \tilde{\eta}}$$

Versuchsaufbau

Die vom Photodetektor abgegebenen elektrischen Spannungsimpulse werden nach ihrer Verstärkung einem Impulsbreiten-Impulshöhenanalysator zugeführt.

Dieser Konverter wandelt die Impulsbreite Δt in eine linear-proportionale Impulshöhe h um : $h = a \cdot \Delta t$ (Abb. 9).

Die verschieden hohen elektrischen Spannungsimpulse des Impulsbreiten-Impulshöhen-Konverters, werden dem 100-Kanal-Impulshöhenanalysator zugeführt, so daß die Summe der Impulshöhen in den Kanälen hoher Kanalzahl der Summe breiterer elektrischer Impulse und die Summe der Impulshöhen in den Kanälen niedriger Kanalzahlen der Summe schmaler elektrischer Impulse entspricht.

Der Impulsbreiten- Impulshöhenkonverter wird mittels eines Rechteckgenerators mit einstellbarer Impulsbreite geeicht. Um die Impulsbreitenverteilung zu erhalten, die ausschließlich der Längenhäufigkeitsverteilung der Thrombozytenaggregate entspricht, wird die Impulsbreitenverteilung einer Erythrozytensuspension von der Impulsbreite des Blutes subtrahiert, welches Thrombozytenaggregate enthält. Dabei besitzen sowohl die Erythrozytensuspension als auch das die Aggregate enthaltene Blut den gleichen Hämatokritwert.

Eichvorgang

Blut aus einer 14 Tage alten ACD-Blutkonserve wurde durch Nylonnetzfilter der Porengrösse 24μ , 38μ , 108μ und 200μ gefiltert, um

Blut mit unterschiedlicher Größenverteilung der Thrombozytenaggregate zu erhalten. Von diesen Blutproben wurden dann die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilungen aufgenommen und die mittlere Größe $\bar{G}$, ausgedrückt in Kanalnummern, errechnet.

Von den gleichen Blutproben wurde daraufhin die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung und damit die Häufigkeitsverteilung der Aggregatlösungen bestimmt. Durch eine elektronische Schwelle am Impulsbreiten-Impulshöhenkonverter wurde die Summe aller Impulse so eingestellt, daß diese der Summe der Impulse in der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung entsprach (Abb. 10).

Aus der Impulsbreiten-Häufigkeitsverteilung wurde die mittlere Länge $\bar{L}$ der Aggregate, ausgedrückt in μ , berechnet.

Wird $\bar{L}$ [μ] in einem Koordinatensystem gegen $\bar{G}$ [$K.N^{\circ}$] aufgetragen, so ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen der Länge der Aggregate und der mittleren Größe $\bar{G}$, ausgedrückt in Kanalzahlen (Abb. 11).

Da diese Eichkurve im Gegensatz zu der durch verschiedene Filter gewonnenen Eichkurve nicht von Filterfunktion abhängig ist, wurde diese Eichkurve als Grundlage weiterer Betrachtungen über die Größe der Thrombozytenaggregate verwendet.

8. Technisch bedingte Einflüsse auf die Gestalt der Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten

a. Temperatur

Da die ACD-Blutkonserven bei 4°C gelagert werden, während der Meßzeit zur Bestimmung der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate aber eine Temperaturerhöhung des zu untersuchenden Blutes, bedingt durch die Versuchsanordnung zu erwarten ist, wurde der Einfluß der Temperatur auf die aus der Größenverteilung errechneten mittleren Größe $\bar{G}$ untersucht. 5 ml Blut aus einer 14 Tage alten ACD-Blutkonserve, bei 4°C gelagert, wurde nach Abnahme aus der Blutkonserve in ein Plastikreagenzglas überführt. Die Temperatur des Blutes im Reagenzglas konnte durch ein Wasserbad mit einstellbarer Wassertemperatur konstant erhalten werden. Um eine Sedimentation des Blutes zu verhindern, wurde während des Meßprogramms im Reagenzglas gerührt (100 U/min.). Das Blut hat man nach Erreichen der eingestellten Wassertemperatur mittels der Spritzenpumpe durch Meßkapillare gesaugt. Dabei wurden für eine Temperatur 5 Messungen durchgeführt. Die Größenverteilungen der Aggregate für die Temperaturen 20° , 25° , 30° , 35° und 40°C und die entsprechende mittlere Größe $\bar{G}$ waren zu bestimmen.

Auswertung

Eine Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ der Aggregate bei 4°C gelagerten und danach wie-

der erwärmten Blutes von der Erwärmungstemperatur läßt sich nicht finden (Abb. 12). Für alle weiteren Untersuchungen über die Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten im bei 4°C gelagerten ACD-Blut kann daher der Temperaturbereich, in dem die Messung der Größenverteilung erfolgt, frei gewählt werden. Für alle weiteren Versuche wurde eine Bluttemperatur von 36°C gewählt.

b. Zeitintervall zwischen Entnahme des Blutes aus der Blutkonserve und Bestimmung der Größenverteilung

Da das zu untersuchende Blut zum Teil aus Blutkonserven stammte, welche als Bluttransfusionen an einem Patienten angeschlossen waren und daher zwischen dem Zeitpunkt der Bluttransfusion und der Untersuchung der Blutprobe ein verschieden langes Zeitintervall (bis maximal 2 h) liegen konnte, interessierte der Einfluß des Zeitintervalls zwischen Abnahme des Blutes und Bestimmung der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate auf die mittlere Größe $\bar{G}$ der Aggregate.

Blutproben einer 14 Tage bei 4°C gelagerten Blutkonserve wurden sofort nach der Abnahme aus der Konserve auf die Größenverteilung der Thrombozytenaggregate untersucht und die mittlere Größe $\bar{G}$ bestimmt.

Jeweils 5 Blutproben wurden erst 20, 60, 80 und 140 min. später nach Lagerung bei Zimmertemperatur (20°C) auf die Größenverteilung der Thrombozytenaggregate hin untersucht und $\bar{G}$ bestimmt.

Auswertung

Eine Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ der Aggregate vom Zeitintervall zwischen Abnahme des Blutes aus einer bei 4°C gelagerten Konserve und der Bestimmung der Größenverteilung der Aggregate läßt sich nicht erkennen (Abb.13).

Alle weiteren Untersuchungen über die Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten nach Abnahme der zu untersuchenden Blutproben aus einer, bei 4°C gelagerten Konserve, wurden daher ohne besondere Berücksichtigung des Zeitintervalls zwischen Abnahme und Messung in einem Zeitraum bis zu 2 h durchgeführt.

c. Länge des Schlauches zwischen Blutprobe und Meßsystem

Da Thrombozytenaggregate an Plastikoberflächen kleben können, sollte der Einfluß der Länge des Plastikschauches, der notwendig ist, um das zu untersuchende Blut zur Meßkapillare zu transportieren, auf die mittlere Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate untersucht werden. Benutzt wurden Polyvinylchlorid (PVC) - Schläuche mit einem inneren Durchmesser von 1 mm, mit einer Länge von 10,30,50,100 und 130 cm. Aus jeweils 5 Blutproben wurde die Größenhäufigkeitsverteilung der Thrombozytenaggregate nach Passage der verschieden langen PVC-Schläuche bestimmt und $\bar{G}$ errechnet.

Auswertung

Eine Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ der Aggregate von der Länge der zum Meßsystem zu-

führenden PVC-Schläuche läßt sich im Bereich von 10-130 cm nicht feststellen (Abb. 14). Alle weiteren Untersuchungen über die Größenverteilung der Thrombozytenaggregate wurden daher mit verschiedenen langen PVC-Schläuchen durchgeführt. Die Länge variierte zwischen 30 und 60 cm.

9. Untersuchungen über die Bildung von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven verschiedener Lagerungsdauer

Untersuchungsmaterial

Es sollte Blut aus ACD-Blutkonserven, welche bei 4°C gelagert waren, auf ihre Konzentration an Thrombozytenaggregaten und auf deren Größenverteilung mit der beschriebenen Versuchsanordnung untersucht werden.

Aus 100 ACD-Blutkonserven mit einer Lagerungsdauer zwischen 0 und 35 Tagen wurde nach vorsichtigem Bewegen der Konserve, um die sedimentierten korpuskulären Bestandteile zu dispersieren, jeweils 10 ml Blut entnommen und in ein nicht benetzbares Plastikreagenzglas überführt.

Während der Meßzeit von 6 Min. wurde ein Blutvolumen von 1,22 ml mittels der Spritzenpumpe gesaugt und die Impulshöhenverteilung durch den 100-Kanal-Impulshöhen-Analysator (Channelyzer Coulter) bestimmt.

Für jede Blutprobe wurden zwei Messungen durchgeführt. Um fehlerhafte Impulshöhen-Häufigkeitsverteilungen, bedingt durch Artefakte im

zu untersuchenden Blut auszuschließen, wurde das aggregatreiche Blut durch Glaswolle gefiltert, um aggregatfreies Blut zu erhalten. Von diesem aggregatfreien Blut wurde die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung bestimmt.

Es wurden nur solche Impulshöhen-Häufigkeitsverteilungen des aggregatreichen Blutes als "echt" angesehen, deren Impulshöhen-Häufigkeitsverteilungen, nachdem das aggregatreiche Blut gefiltert und somit aggregatfrei geworden war, der einer standardisierten Erythrozyten-suspension aus gewaschenen Erythrozyten mit gleichem Hämatokritwert, entsprach (Abb. 7).

In diesem Vergleich wurde der Hämatokritwert einer jeden Blutprobe bestimmt.

Auswertung

Die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung wurde in ein halblogarithmisches Koordinatensystem übertragen und graphisch die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch die Thrombozytenaggregate $N_e (G)$, ermittelt. Von dieser Geraden konnten N_{e0} , die Anzahl der kleinsten Aggregate und a_e , die Steigung der Geraden, bestimmt werden. Aus diesen beiden Größen kann G , die Anzahl aller Aggregate in [ml] Blut und $\bar{G}$ die mittlere Größe der Aggregate, ausgedrückt in Kanalzahlen, errechnet werden.

III. Ergebnisse

Die vorliegenden Ergebnisse, entsprechend der Versuchsanordnung, können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Die Veränderung des Hämatokrits in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der ACD-Blutkonserven.

Da eine Veränderung des Hämatokrits in einer luftdicht verschlossenen Blutkonserve nur durch eine mit der Lagerungsdauer zunehmenden Hämolyse zu erklären ist, wurde darauf geachtet, nur Blut aus ACD-Blutkonserven zu verwenden, welches keine Anzeichen einer Hämolyse zeigte. Es konnte daher keine signifikante Abhängigkeit des Hämatokrits von der Lagerungsdauer beobachtet werden (Abb.15).

2. Veränderung der Gestalt der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven.

Trägt man die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der Blutkonserve in einem dreidimensionalen Koordinatensystem auf (Abb. 16), so zeigt sich, daß :

- a. die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung $N_e (g)$ mit zunehmender Lagerungsdauer flacher wird

- b. die Anzahl der kleinsten nachweisbaren Thrombozytenaggregate mit zunehmender Lagerungsdauer abnimmt,
- c. die Anzahl der größeren Thrombozytenaggregate mit zunehmender Lagerungsdauer zunimmt,
- d. ab dem 13. Lagerungstag die Gestalt der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate bis zum 35. Lagerungstag nahezu konstant bleibt.

3. Veränderung der Steigung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven.

Als Maß für die in Abb. 17 zu beobachtende Tendenz der Zunahme der Größe der Thrombozytenaggregate und Abnahme ihrer Anzahl kann die Steigung a_e der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung angesehen werden.

Wird diese Größe in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der Blutkonserve graphisch dargestellt, so zeigt sich ein steiler Anstieg von a_e während der Lagerungsdauer bis zu 12 Tagen mit einem folgenden konstanten Verhalten.

4. Veränderung der Anzahl von Thrombozytenaggregaten aller Größen in Abhängigkeit der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven.

Wird die errechnete Anzahl aller Thrombozytenaggregate in 1 ml Blut in Abhängigkeit

von der Lagerungsdauer der ACD-Blutkonserven graphisch dargestellt, so zeigt sich ein starker Abfall der Konzentration $c \left[\text{ml}^{-1} \right]$ bis zum 12. Lagerungstag, gefolgt von einem konstanten Verhalten der Konzentration bis zum 35. Lagerungstag (Abb. 18).

Die große statistische Streuung der Anzahl der Thrombozytenaggregate im Bereich kurzer Lagerungsdauer ist sowohl durch die verschiedenen hohe Konzentration an Thrombozyten im Blutspender als auch durch die Ungenauigkeit der Bestimmung von N_{e0} zu erklären.

5. Veränderung der mittleren Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven.

Wird die mittlere Größe $\bar{G}$, ausgedrückt in Kanalzahlen, in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t graphisch dargestellt, so zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg der mittleren Größe der Thrombozytenaggregate bis zum 19. Lagerungstag der ACD-Blutkonserven, gefolgt von einem nur geringfügigen weiteren Anstieg der mittleren Größe $\bar{G}$ (Abb. 19).

Wird der Anstieg der mittleren Größe $\bar{G}$, ausgedrückt in Kanalzahlen in Relation zur Eichkurve (Abb. 11), betrachtet, so steigt die mittlere Länge $\bar{l}$ der Thrombozytenaggregate während der Lagerungsdauer von 20μ am Abnahmetag des Blutes bis auf 81μ am 24. Lagerungstag der ACD-Blutkonserven an.

IV. Die Verwendung der Meßmethode zur Beurteilung der Güte von Blutfiltern

Um auch älteres thrombozytenaggregatreiches Blut ohne die in der Literatur beschriebenen Komplikationen transfundieren zu können, werden heute auf dem Markt eine Vielzahl von sog. Blutfiltern angeboten.

Da die Hersteller dieser Filter unterschiedliche oder auch manchmal keine Angaben über die Effizienz ihrer Filter machen, sollte geprüft werden, ob mit der in dieser Arbeit beschriebenen Methode zur Bestimmung der Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten eine geeignete Methode zur Bestimmung der Filtereffizienz vorliegt.

Methode

Blut aus drei 16 Tage alten ACD-Blutkonserven mit gleicher Blutgruppe wurde gemischt, um eine einheitliche Größenverteilung der in den drei Blutkonserven enthaltenen Thrombozytenaggregate herzustellen.

Nach Bestimmung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung des nicht gefilterten Blutes wurden nach der Passage des Blutes durch einen kommerziellen Blutfilter (Ultipor^R) Blutproben aus dem gefilterten Blut entnommen und die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung in ihnen bestimmt.

Auswertung

Bestimmt man für jeden Kanal des Impulshöhenanalysators den Quotienten aus der Anzahl hervorgerufen durch das gefilterte Blut mit der Anzahl der Impulse, hervorgerufen durch das ungefilterte Blut, so ergibt sich eine Verteilung der Filterfähigkeit des Blutfilters über alle 100 Kanäle des Impulshöhenanalysators. Beträgt der Quotient $F = 1$ in einem Kanal, so kann angenommen werden, daß der Blutfilter für diesen Kanal entsprechend dieser Größe von Thrombozytenaggregaten alle Partikel hat passieren lassen.

Beträgt der Quotient $F = 0$ in einem der 100 Kanäle des Impulshöhenanalysators, so kann daraus geschlossen werden, daß der Blutfilter für diese Thrombozytenaggregatgröße nicht durchlässig ist.

Da eine Veränderung der Filtercharakteristik des Blutfilters in Abhängigkeit von der Gesamtlänge des gefilterten Blutes wegen der Möglichkeit der Verstopfung des Filters mit Thrombozytenaggregaten anzunehmen ist, wurde die Filterfähigkeit des Blutfilters in Abhängigkeit von der Gesamtmenge des gefilterten Blutes untersucht.

Ergebnis

Die nach der Passage von 500, 750, 1000 und 1250 ml Blut entnommenen, gefilterten Blutproben zeigten unterschiedliche Impulshöhen-Häufigkeitsverteilungen. Wurde der Quotient F

bestimmt, so bestätigte sich die Vermutung,
daß

1. in den niedrigen Kanalzahlen keine Filterfunktion nachweisbar war ($F = 1$), was einer Durchlässigkeit von 100% entspricht, und daß
2. die Durchlässigkeit mit zunehmender Kanalzahl $K.N^0$ abnahm. Größere Thrombozytenaggregate werden also besser zurückgehalten als kleinere. Trägt man die Filterfunktion in Abhängigkeit von der Gesamtmenge des schon gefilterten Blutvolumens in einem dreidimensionalen Koordinatensystem auf, so zeigt sich eine Zunahme der Filterfähigkeit des Blutfilters mit zunehmender Gesamtmenge des gefilterten Blutes (Abb. 20).

V. Diskussion

Benner, Frede und Lauterjung (2) benutzten erstmals eine photometrische Methode, um Thrombozytenaggregate, hervorgerufen durch ADP, im fließenden Blut nachzuweisen.

Es sollte in der vorliegenden Untersuchung vor allem eine Methode entwickelt werden, die, beruhend auf den Untersuchungen von Lauterjung und Isselhard (30), eine genauere Aussage über Größe und Anzahl von Thrombozytenaggregaten und die Kinetik der Aggregation in ACD-Blutkonserven ermöglicht.

Aus klinischem Interesse wurden als Versuchsobjekt die schon bekannten Thrombozytenaggregate in verschiedenen alten ACD-Blutkonserven gewählt. Es zeigte sich, daß die sich in der Blutkonserve befindenden Aggregate so verhalten, wie die durch ADP oder Kollagen induzierten Aggregate in Frischblut.

So konnte durch Zugabe von ADP oder Kollagen aus einem vorher monoexponentiellen Verlauf der Größenverteilung von Vollblut ein biexponentieller der Größenverteilung gewonnen werden. Andererseits konnte durch Filtern aggregatreichen Blutes, hervorgerufen durch ADP oder Kollagen, mittels Filtern durch Glaswolle wieder ein monoexponentieller Verlauf der Größenverteilung gewonnen werden. Dieser ist vom Hämatokrit des Vollblutes abhängig.

Somit kann das schon früher beschriebene Prinzip zur Bestimmung der Anzahl von Thrombozytenaggregaten auch auf die im ACD-Blut befindlichen Aggregate angewendet werden, obwohl sich diese Aggregate morphologisch von denen, hervorgerufen durch ADP oder Kollagen, unterscheiden. So enthalten Aggregate im Blut einer ACD-Blutkonserve mehr Fibrin und Leukozyten, als Aggregate, die durch ADP oder Kollagen hervorgerufen werden (50).

Der Vorteil der hier beschriebenen photometrischen Methode im Vergleich zur sog. Siebdruckmethode von SWANK (1961), liegt in der Möglichkeit, sowohl die Konzentration als auch die Größenverteilung der Aggregate des zu untersuchenden Blutes anzugeben. DHALL (12) konnte erstmals eine direkte Proportionalität zwischen der Erhöhung des Siebdruckes von Vollblut, in dem die Thrombozyten aggregiert worden waren, und der maximalen Größe der Thrombozytenaggregate zeigen. Es war bisher nicht gelungen, ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Erhöhung des Siebdruckes und der Anzahl der Thrombozytenaggregate herzustellen, wobei anzunehmen ist, daß eine große Anzahl kleinerer Aggregate die gleiche Siebdruckerhöhung bewirken könnte, wie eine kleine Anzahl großer Thrombozytenaggregate.

Die für eine pathophysiologische relevante Aussage notwendige Angabe, sowohl der Anzahl als auch der Größe von Aggregaten, läßt sich aus folgendem Sachverhalt ableiten:

Der Thrombozytokrit beträgt im Durchschnitt 4,8 ml/l (13). Somit befinden sich in einer frischen ACD-Blutkonserve, d.h. am o. Tag, 2,4 ml reine Thrombozyten. Nach maximaler Aggregation aller dieser Thrombozyten zu einer Kugel besäße dieses „Thrombozytenaggregat“ einen Durchmesser von 1,7 cm.

Die Transfusion von Blut, welches ein Thrombozytenaggregat dieser Größe erhielte und einen hypothetischen unendlichen Siebdruck in der SWANK'schen Versuchsanordnung hervorrufen würde, hätte bei dem dieses Blut empfangenden Patienten eine fulminante Lungenembolie zur Folge.

Andererseits wird die Transfusion vieler kleiner Aggregate, bestehend aus der gleichen Anzahl Thrombozyten wie in der hypothetischen Thrombozytenkugel, die in der SWANK'schen Versuchsanordnung einen endlichen Siebdruck erzeugt, gefahrlos vom Patienten vertragen.

1. Zur Abhängigkeit der mittleren Größe der Thrombozytenaggregate von der Zeit zwischen Abnahme des Blutes aus der ACD-Konserve und von der Temperatur

Das Prinzip der in dieser Arbeit beschriebenen Versuchsanordnung ist bisher an fließendem Blut angewendet worden (2, 30). Um mit der Versuchsanordnung auch Blut auf den Aggregatgehalt untersuchen zu können, welches erst nach einer Zeitspanne und nach Erwärmen auf eine höhere Temperatur als die

in der Konserve herrschende, durch die Versuchsanordnung geschickt wird, mußte zuerst geprüft werden, welchem Einfluß diese Parameter auf die Größenverteilung ausüben. Die Anwendung des Untersuchungsprinzips für die unter „ Methodik " angegebene Versuchsanordnung (s. S. 9) bedingte ferner, im Unterschied zu der ursprünglich angegebenen Versuchsanordnung (2, 30) zur Bestimmung von Thrombozytenaggregaten im fließenden Blut eine längere Zuleitung des Blutes zur Meßkapillare. Ein Einfluß der Länge des zuführenden Schlauches auf die mittlere GröÙe der gemessenen Thrombozytenaggregate, wäre wegen der Klebrigkeit der Thrombozytenaggregate zu erwarten. Es zeigte sich jedoch keine statistisch signifikante Abhängigkeit zwischen der Länge des zuführenden Schlauchsystems zur Meßkapillare und der errechneten mittleren GröÙe der Thrombozytenaggregate. Somit ist die Versuchsanordnung auch mit dem für diese Untersuchung veränderten Zuführungssystem des zu untersuchenden Blutes zur Meßkapillare als frei von Einflüssen des zuführenden Systems auf das Verhalten der Thrombozytenaggregate anzusehen.

KÜNZEL und HIRSCH (29) fanden in ihren Untersuchungen über den Siebdruck von Blut aus ACD-Blutkonserven verschiedenen Alters eine deutliche Zunahme des Siebdruckes nach Erwärmen bei 4°C gelagerten Konservenblutes.

Ferner konnten sie einen Anstieg des Siebdruckes in Abhängigkeit von der Zeit feststellen, die zwischen Abnahme des Blutes aus der ACD-Blutkonserve und Bestimmung des Siebdruckes lag. Aus ihren Beobachtungen schlossen KÜNZEL und HIRSCH die Forderung, Blut aus ACD-Blutkonserven noch kalt zu transfundieren. Aufwärmen der Blutkonserve in einem Wasserbad, wie es häufig in der Klinik praktiziert und empfohlen wird, sei nicht statthaft (5, 45).

Die hier vorgelegten Untersuchungen ergaben keinen signifikanten Anhalt für eine Zunahme der mittleren Größe der sich in einer bei 4° C gelagerten ACD-Blutkonserve befindlichen Thrombozytenaggregate in einem Temperaturbereich von 20-40° C.

Eine signifikante Veränderung der mittleren Größe der Aggregate in Abhängigkeit von der Zeitdauer der Entnahme aus der Blutkonserve und der Messung konnte bei 37° C ebenfalls nicht gefunden werden.

Die mittlere Größe der Thrombozytenaggregate war zum Zeitpunkt der Entnahme des Blutes aus der ACD-Blutkonserve gleich der 140 Min. später bei einer Bluttemperatur von 37° C.

Auch dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Erkenntnissen von KÜNZEL und HIRSCH, die schon in den ersten zwei Stunden eine Zunahme des Siebdruckes feststellen konnten. Aus diesen Ergebnissen kann daher geschlossen werden, daß bezüglich der Transfusion

von ACD-Blut keine Rücksicht auf die Temperatur während der Transfusion genommen werden muß.

Wenn man den Gehalt des Blutes an Thrombozytenaggregaten als Qualitätsmerkmal ansieht, sind auch nach Entnahme des ACD-Blutes aus dem Kühlvorratsbehälter und bei zweistündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur keine Qualitätseinbußen zu befürchten. Es macht weiter keinen Unterschied bezüglich der Thrombozytenaggregate, ob das zu transfundierende Blut wieder erwärmt wird bis auf 40° C oder kalt transfundiert wird.

Da MARX (34) einen Einfluß der Erythrozyten auf die Thrombozytenaggregation nachweisen konnte, wurde, um einen Einfluß des sich evtl. während der Lagerung verändernden Hämatokrits auf den zeitlichen Verlauf der Thrombozytenaggregation auszuschließen, vom Blut aller ACD-Blutkonserven der Hämatokrit bestimmt. Eine signifikante Abhängigkeit des Hämatokrits von der Lagerungsdauer der ACD-Blutkonserven konnte nicht festgestellt werden. Somit kann für den zeitlichen Verlauf der Aggregatbildung auch nicht der Hämatokrit als Beeinflussung der Größe angesehen werden.

2. Zum zeitlichen Verlauf der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate

Betrachtet man den zeitlichen Verlauf der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate

so fällt auf, daß die Größenverteilung der Thrombozytenaggregate in der ACD-Blutkonserve zur Zeit der Blutentnahme ($t = 0$ Tage) (Abb. 16) schon eine Aggregation von Thrombozyten nachweist. Auch KÜNZEL und HIRSCH (29) konnten in ihrer Arbeit in manchen Konserven eine schnelle Aggregation nachweisen. So stieg in einigen Konserven der Siebdruck als Maß für die Thrombozytenaggregation schon während der Lagerungsdauer von 24 h auf 1000% des Wertes zur Zeit der Abnahme an.

Ab 10. Lagerungstag läßt sich keine eindeutige Veränderung der Gestalt der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate mehr nachweisen. Die Größenverteilungen verlaufen flacher, als zum Zeitpunkt der Blutabnahme ($t = 0$), was auf eine im Vergleich zum Zeitpunkt der Blutentnahme geringere Anzahl von kleineren Aggregaten und höhere Anzahl von größeren Aggregaten schließen läßt.

Interpretiert man den Verlauf der Größenverteilungen der Thrombozytenaggregate im Verlauf der ersten 10 Lagerungstage, so kann gefolgert werden, daß in den ersten 10 Lagerungstagen aus vielen kleinen Aggregaten mehrere große geworden sind, die sich in der Folgezeit nicht zu noch größeren Aggregaten zusammenschließen.

Das oben geschilderte Beispiel einer nach unendlich langer Lagerungsdauer einer ACD-Blutkonserve sich entwickelnden Thrombozy-

tenkugel mit einem Durchmesser von 1,7 cm ist somit nach zeitlicher Extrapolation nicht möglich.

Die Umwandlung von Thrombozyten in Thrombozytenaggregate in einer bei 4° C gelagerten ACD-Blutkonserve ist nach den vorliegenden Untersuchungen nach einer Lagerungsdauer von ca. 10 Tagen abgeschlossen.

Dieser Befund steht im Widerspruch zu denen von KÜNZEL und HIRSCH, die eine stetige Zunahme des Siebdruckes von ACD-Blut bis zu 22 Tagen beobachteten.

Der zeitliche Verlauf der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate, die in Abb. 16 wiedergegeben ist, entspricht eher den Untersuchungen von HARP (17), der ebenfalls mit der Siebdruckmethode die Siebdruckerhöhung in alternden ACD-Blutkonserven untersucht hat. HARP fand einen relativ niedrigen Siebdruck während der ersten 5 Lagerungstage mit einem eindeutigen Anstieg während der nächsten 5 Lagerungstage, gefolgt von einem konstanten Verhalten des Siebdruckes über eine Lagerungsdauer vom 11. bis 21. Tag.

Verdeutlicht wird die Bildung der Thrombozytenaggregate, wenn man die Zunahme der mittleren Größe und die Abnahme der Gesamtzahl der Aggregate betrachtet. Konnte schon aus der Gestalt der Größenverteilung der Aggregate und der zeitlichen Veränderung der Größenverteilung auf eine Aggregation kleiner Aggregate zu größeren in den ersten 10

Lagerungstagen geschlossen werden, so zeigt die Abnahme der Anzahl aller Aggregate in den ersten 10 Lagerungstagen diese Beobachtung genauer.

Befinden sich zur Zeit der Blutentnahme vom Spender $330\ 000 \pm 160\ 000$ Aggregate aller Größen in 1 ml ACD-Blut, so fällt dieser Wert auf 8000 ± 1200 Aggregate nach 10 Lagerungstagen ab.

Im gleichen Zeitraum nimmt die mittlere Größe $\bar{G}$ um fast den Faktor 5 zu (Abb. 19). Wendet man die in Abb. 11 angegebene Eichgerade an, so zeigt sich, daß die mittlere Länge der Thrombozytenaggregate von $19\ \mu$ am Tag der Blutabnahme auf $60\ \mu$ am 10. Lagerungstag angestiegen ist, um nur noch auf $75\ \mu$ am 22. bis 24.Lagerungstag anzusteigen.

In bezug auf die Menge transfundierten Blutes kann nach vorliegenden Befunden gesagt werden, daß eine 10 Tage alte ACD-Blutkonserve 4 Mio. Thrombozytenaggregate aller Größen enthält, wobei die mittlere Größe dieser Aggregate $60\ \mu$ beträgt.

3.Pathophysiologische Bedeutung der erhobenen Befunde

Von mehreren Autoren (10,25,27,40) konnten nach Transfusion von ACD-Blut in den Lungenkapillaren Microemboli vorwiegend aus Thrombozytenaggregaten nachgewiesen werden.

Die Filterfähigkeit der Lunge für Thrombozytenaggregate ist ebenfalls in zahlreichen Arbeiten nachgewiesen worden (4,11,23,24,30,31, 32,46,51,52,53).

Dabei können die Thrombozytenaggregate durch verschiedene pathophysiologische Mechanismen wie Trauma hervorgerufen werden. In letzter Zeit ist sogar eine spontane Thrombozytenaggregation als wahrscheinliche Todesursache beschrieben worden (44).

Mit der hier beschriebenen Methode ist es möglich, erstmals eine genauere Aussage über das Ausmaß der in der Lunge möglicherweise wegverlegenden Thrombozytenaggregate, die bei einer Transfusion in die Lunge gelangen, zu erhalten.

Da eine große Anzahl wegverlegender Thrombozyten schon in den ersten 10 Tagen der Lagerung einer ACD-Blutkonserve gefunden wurde, und der negative Einfluß der Thrombozytenaggregate auf die Lungenperfusion aus Untersuchungen zahlreicher Autoren angenommen werden muß, sollten grundsätzlich Blutfilter bei der Transfusion verwendet werden. Dabei sollte der Gebrauch dieser Blutfilter nicht vom Alter der Konserve abhängig gemacht werden, da schon eine vom anwendenden Arzt als „jung“ angesehene Blutkonserve nach 10 Tagen so „schlecht“ in bezug auf ihren Gehalt an Aggregaten ist, wie eine 3 Wochen alte Blutkonserve, die als fast verfallen angesehen wird. Daß die heute kommerziell erhältlichen Filter in ihrer Filterfähigkeit die Thrombo-

zytenaggregate zum Teil zurückhalten, konnte an einem Beispiel gezeigt werden. Die in dieser Arbeit beschriebene Methode der Bestimmung von Größe und Anzahl von Thrombozytenaggregaten bietet sich als Testmethode zur Bestimmung der Güte von Bluttransfusionsfiltern an.

VI. Zusammenfassung

Mit einer photoelektrischen Methode wurden Größe und Anzahl von Thrombozytenaggregaten in ACD-Blutkonserven in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Konserven bestimmt. Bei der photoelektrischen Methode wird die höhere Lichttransparenz der Thrombozytenaggregate im Vergleich zu der sie umgebenden Erythrozytensuspension genutzt. Beim Durchfluß durch eine Glaskapillare werden mit Hilfe einer Photozelle und einer geeigneten Verstärkeranordnung die Helligkeitsunterschiede in elektrische Impulse umgeformt. Die Höhe der Impulse ist vom Durchmesser der Thrombozytenaggregate abhängig. Durch Eingabe der Impulse in einen 100-Kanal-Impulshöhenanalysator (Channelyzer-Coulter) wird eine Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch die Erythrozytensuspension und die Thrombozytenaggregate, gewonnen, die der Summe zweier Exponentialfunktionen entspricht.

$$N = N_{hO} \cdot e^{-a_h \cdot G} + N_{eO} \cdot e^{-a_e \cdot G}$$

In dieser Gleichung bedeutet:

N_e : Anzahl der photoelektrischen Impulse, hervorgerufen durch die Thrombozytenaggregate.

N_h : Anzahl der photoelektrischen Impulse, hervorgerufen durch die Erythrozytensuspension.

a_h und a_e sind Konstanten, a_h ist vom Hämatokrit des Blutes abhängig, a_e von der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate.

Aus der Gleichung läßt sich durch Integration die Anzahl aller Thrombozytenaggregate berechnen

$$\int dN = N_0 \int_0^{\bar{G}} e^{-a \bar{G}} \cdot \bar{G} \cdot d\bar{G}$$

Die mittlere Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate läßt sich bestimmen: $\bar{G} = \frac{N}{N_0}$

Die wahre Aggregatgröße wurde mit Hilfe eines Impulsbreiten-Impulshöhen-Konverters bestimmt, da die Impulsbreite des vom Thrombozytenaggregat in der Meßanordnung hervorgerufenen elektrischen Impulses der Länge des Thrombozytenaggregats entspricht.

Ein Einfluß auf die Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten erstens durch Erwärmung des bei 4°C gelagerten ACD-Konservenblutes, zweitens durch ein Zeitintervall bis zu 2h zwischen Abnahme des Blutes aus der Blutkonserve und Bestimmung der Größenverteilung und drittens durch die Länge des Schlauches zwischen Blutprobe und Meßsystem wurde ausgeschlossen.

Aus 100 ACD-Blutkonserven mit einer Lagerungsdauer zwischen 0 und 35 Tagen bei 4°C wurde die Größenverteilung der Thrombozytenaggregate bestimmt. Es zeigte sich, daß die Anzahl kleinerer Thrombozytenaggregate während der Lagerungsdauer abnimmt, wogegen die Anzahl größerer Thrombozytenaggregate zunimmt, wobei ab dem 13. bis zum 35. Lagerungstag die Gestalt der Größenverteilung nahezu konstant bleibt. Die Veränderung der

Größenverteilung ist durch Zusammenballung kleiner Thrombozytenaggregate zu größeren zu erklären.

Die mittlere Länge $\bar{l}$ der Thrombozytenaggregate steigt von 20 μ am Abnahmetag auf 81 μ am 24. Lagerungstag der ACD-Blutkonserven an.

VII. A b b i l d u n g e n

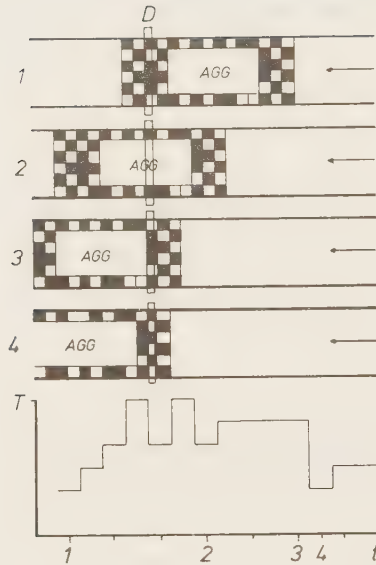


Abb. 1 :

Schematische Darstellung des Meßprinzips. D bezeichnet den im rechten Winkel zur Strömungsrichtung ($\leftarrow$) des Blutes angeordneten Photodetektor. Der Photodetektor registriert Unterschiede in der Lichttransparenz (T) des die Kapillare passierenden Blutes während der Meßzeit (t). Die Erythrozyten sind durch $\square$ schematisch dargestellt. AGG soll ein, die Kapillare passierendes Thrombozytenaggregat darstellen.

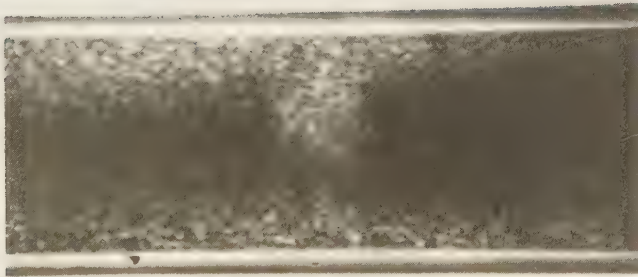


Abb. 2 :

Microphotographie eines eine Kapillare passierenden Thrombozytenaggregats. Der Durchmesser der Kapillare beträgt 280 μ .

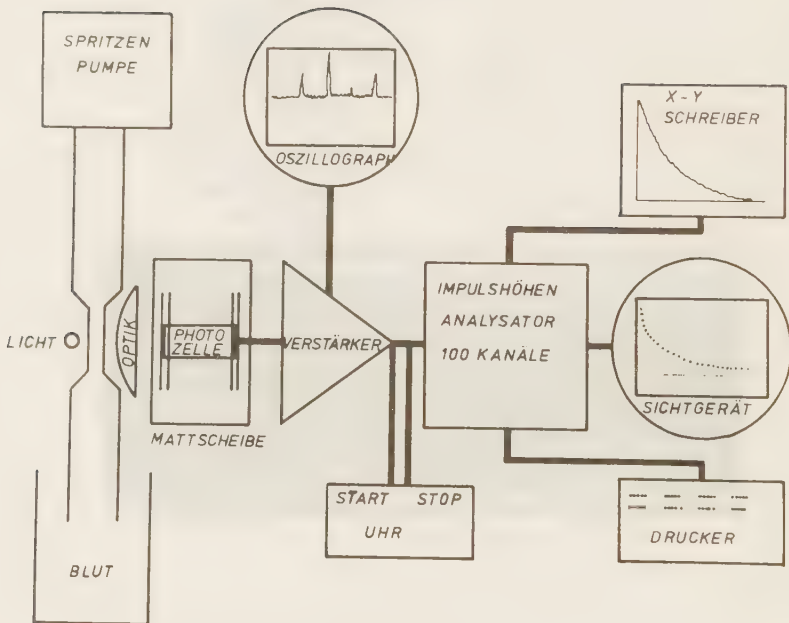


Abb. 3 :

Schematische Darstellung der Versuchsanordnung
(ausführliche Beschreibung s. Text S. 9),

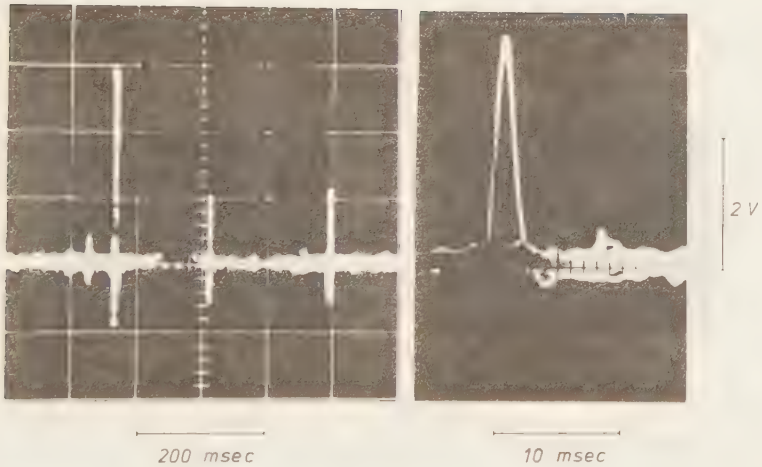


Abb. 4 :

Originalaufnahmen der elektrischen Spannungsimpulse, dargestellt auf einem Kathodenstrahl-
oszilloskop, hervorgerufen durch Thrombozyten-
aggregate verschiedener Größe.

Zur genaueren Darstellung der Impulse ist auf
dem rechten Bild die Zeitablenkung des Oszillo-
graphen 20-fach gedehnt.

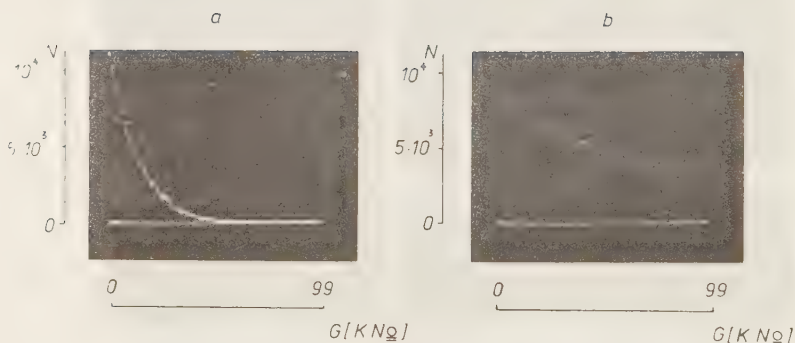


Abb. 5 :

Originalaufnahmen der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung vom Bildschirm des Channelyzers (Coulter).

In Bild a ist eine Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung einer Erythrozytensuspension dargestellt.

In Bild b ist eine Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung von Blut mit darin enthaltenen Thrombozytenaggregaten dargestellt.

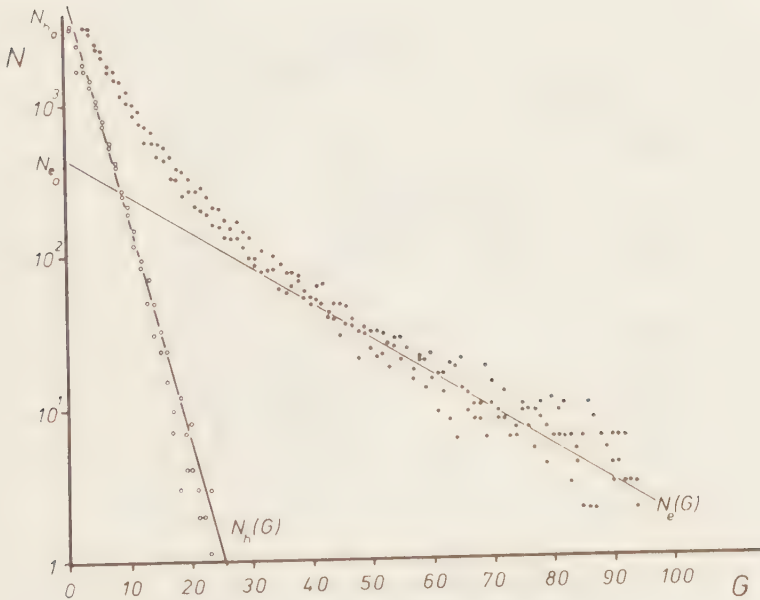


Abb. 6 :

Darstellung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung im halblogarithmischen Koordinatensystem.

Die Gerade $N_h (G)$ charakterisiert die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, welche durch die Erythrozyten-suspension hervorgerufen wird.

Die Gerade $N_e (G)$ charakterisiert die Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, welche durch die Thrombozyten-aggregate hervorgerufen wird.

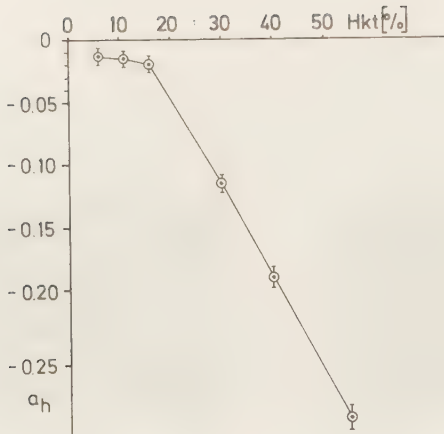


Abb. 7 :

Abhängigkeit der Steigung a_h der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung der Erythrozytensuspension vom Hämatokrit [%] .

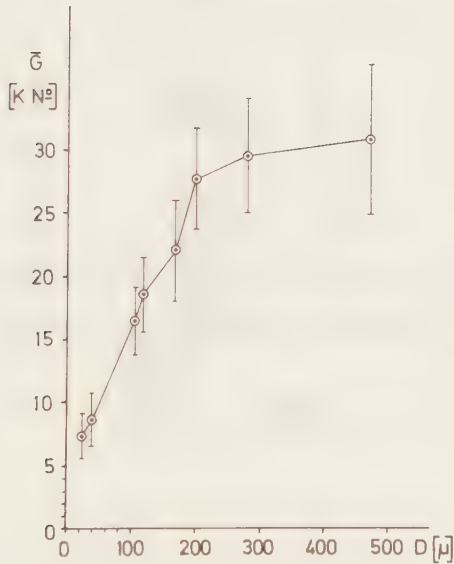


Abb. 8 :

Abhängigkeit der aus der Größenverteilung der Thrombozytenaggregate ermittelten mittleren Größe $\bar{G}$. (Einheiten sind Kanalzahlen des Impulshöhenanalysators und Porengröße D der Nylonsiebe, durch die aggregatreiches Blut gefiltert wurde).

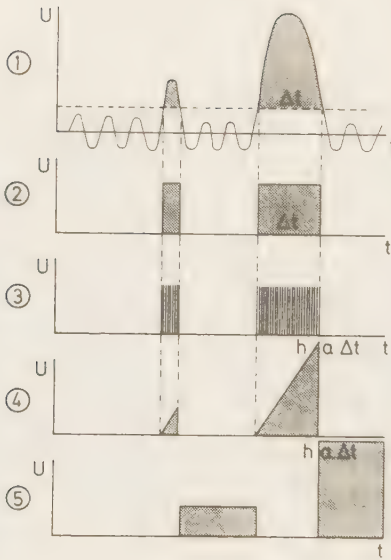


Abb. 9 :

Schematische Darstellung der Umwandlung von Impulsbreite Δt der photoelektrischen Impulse in der Impulsbreite proportionale elektrische Impulse der Spannung $U = h a \cdot \Delta t$. Die Zahlen 1-5 geben die einzelnen Umformungsschritte im Impulsbreiten-Impulshöhenkonverter wieder. In 1 ist das vom Photodetektor abgegebene Signal bei der Passage zweier Thrombozytenaggregate durch die Kapillare wiedergegeben. In 5 ist das entsprechende Signal nach Umformung im Konverter dargestellt.

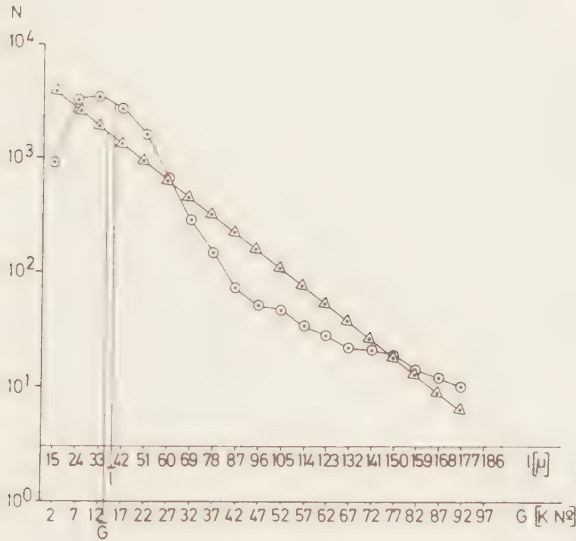


Abb. 10:

Größenverteilung von Thrombozytenaggregaten, welche durch zwei verschiedene Verfahren ermittelt wurden:

1. durch Bestimmung der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung $\triangle$ der vom Photodetektor abgegebenen elektrischen Impulse. Die mittlere Impulshöhe G , welche direkt proportional zur Größe der Aggregate ist, wird in Kanalzahlen ausgedrückt $[K \cdot N^0]$.
2. durch Bestimmung der Impulsbreiten-Häufigkeitsverteilung $\circ$ der vom Photodetektor abgegebenen elektrischen Impulse. Die mittlere Impulsbreite ist in dieser Darstellung in die mittlere Länge $\bar{l}$ $[\mu]$ der Aggregate umgeformt worden. Die Summe aller Impulse in beiden Häufigkeitsverteilungen ist gleich.

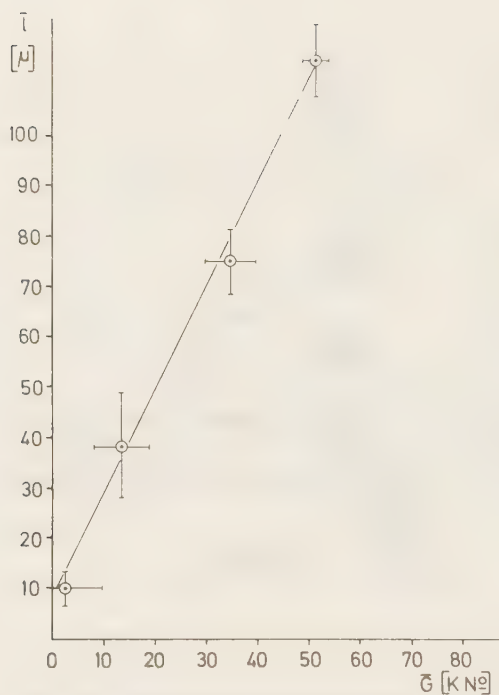


Abb. 11 :

Abhängigkeit der errechneten mittleren Größe $\bar{G}$ (Einheiten sind in Kanalzahlen angegeben) der Thrombozytenaggregate von ihrer gemessenen mittleren Länge $\bar{l}$ (Einheiten sind in μ angegeben). Für jeden Meßwert ist $n = 6$. Da diese Gerade als Eichgerade für $\bar{G}$ verwendet wird, ist $\bar{G}$ auf der Abszisse aufgetragen.

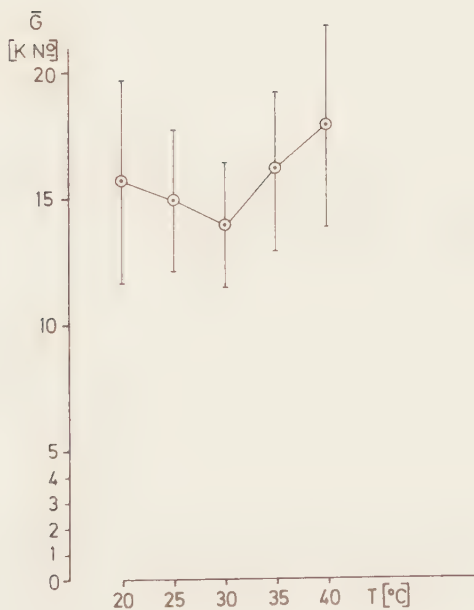


Abb. 12 :

Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ (Einheiten sind als Kanalzahlen angegeben) der Thrombozytenaggregate von der Temperatur des bei 4° C gelagerten und aufgewärmten Blutes aus einer ACD-Blutkonserve. Für jeden Meßwert ist $n = 5$.

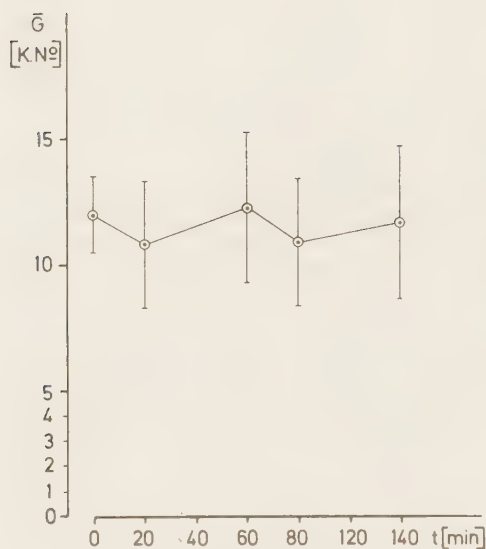


Abb. 13:

Abhängigkeit der mittleren Größe $\bar{G}$ (Einheiten in Kanalzahlen) der Thrombozytenaggregate in einer Blutprobe von der Dauer des Zeitintervalls t zwischen Abnahme des Blutes aus der ACD-Blutkonserve und der Bestimmung der Größenverteilung. Für jeden Meßwert ist $n = 5$.

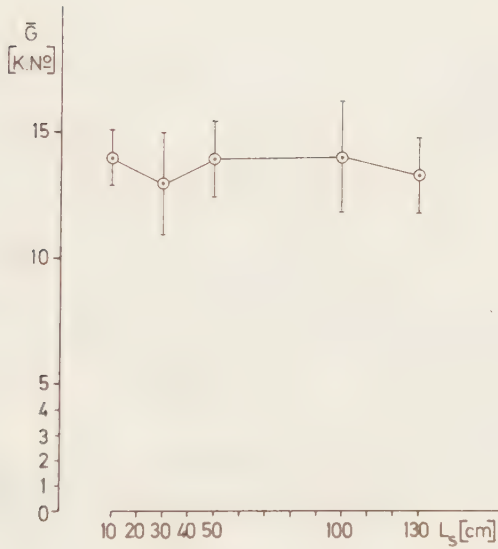


Abb. 14 :

Die mittlere Größe $\bar{G}$ (Einheiten in Kanalzahlen) der Thrombozytenaggregate, in Abhängigkeit von der Länge L_s des in der Versuchsanordnung benutzten PVC-Schlauches, durch den das zu untersuchende Blut zur Meßkapillare geschickt wird. Für jeden Meßwert ist $n = 5$.

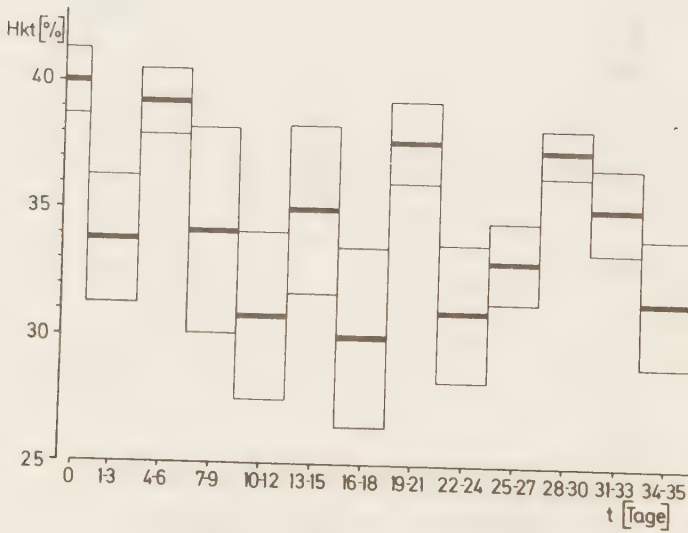


Abb. 15 :

Veränderung des Hämatokrits [Hkt] in Abhängig-
keit von der Lagerungsdauer der ACD-Blutkonserve.

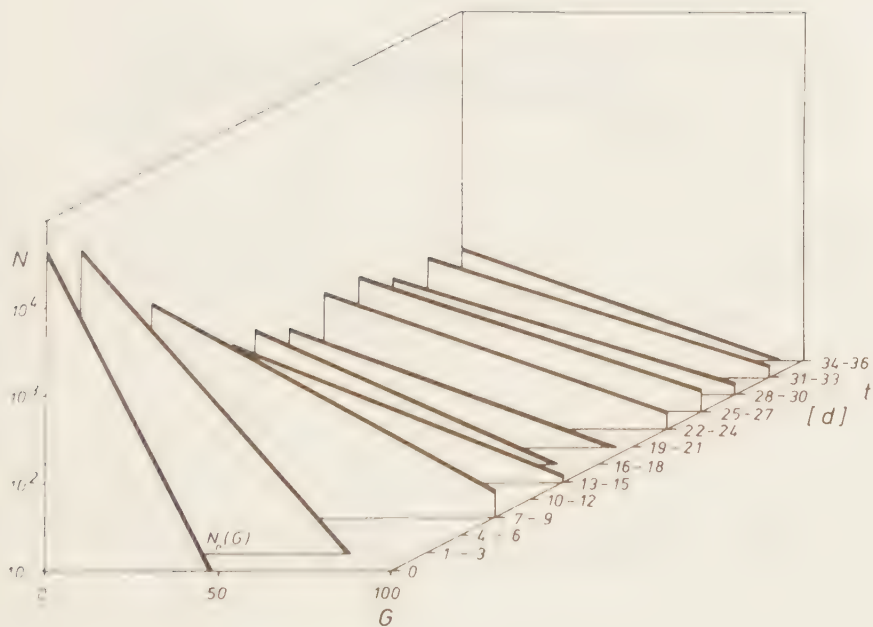


Abb. 16 :

Abhängigkeit der Größenverteilung $N_e(G)$
von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserve.



Abb. 17 :

Veränderung der Steigung a_e der Impulshöhen-Häufigkeitsverteilung, hervorgerufen durch Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven.

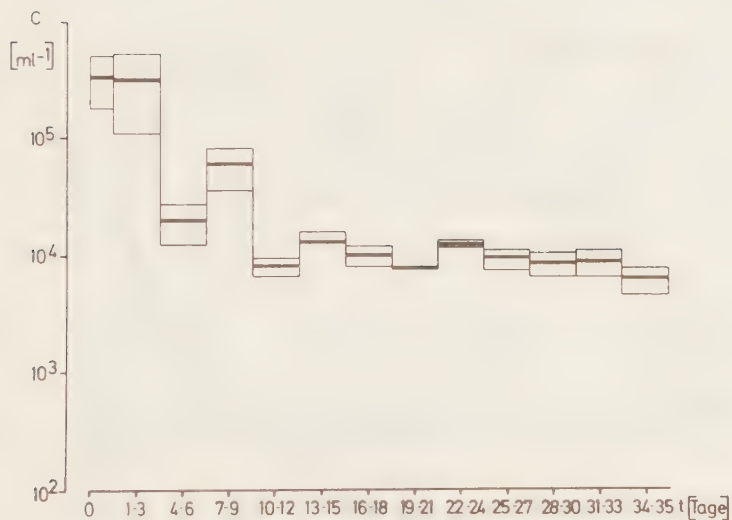


Abb. 18 :

Veränderung der Anzahl von Thrombozytenaggre-
gaten aller Größen in Abhängigkeit von der
Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven. Die
Anzahl der Thrombozytenaggregate ist als Kon-
zentration c [ml⁻¹] angegeben.

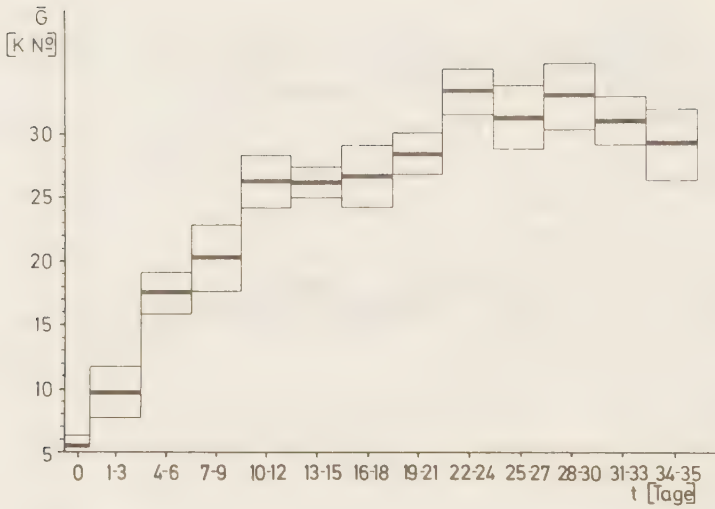


Abb. 19 :

Veränderung der mittleren Größe $\bar{G}$ der Thrombozytenaggregate in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer t der ACD-Blutkonserven. Als Dimension für G ist die Kanalzahl $[K.N^O]$ angegeben.

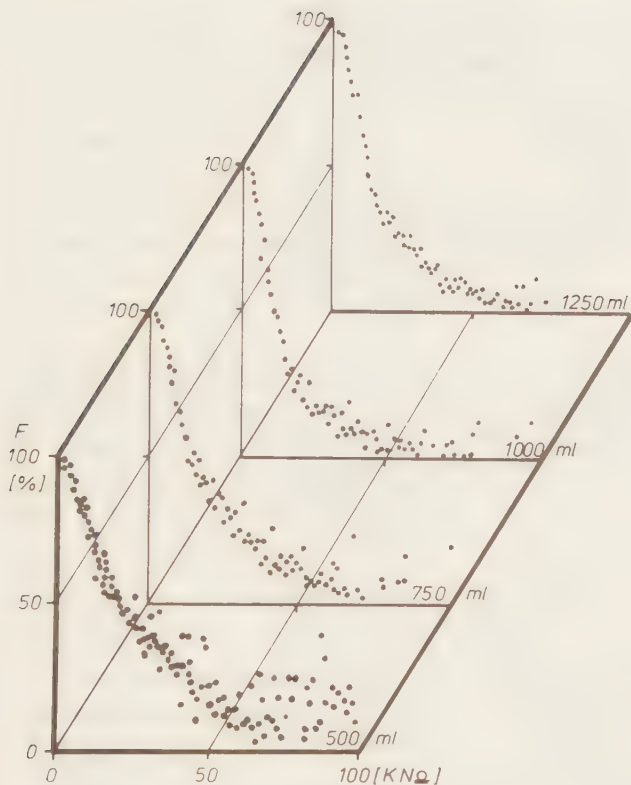


Abb. 20:

Das Filtervermögen F eines kommerziellen Blutfilters (Ultipor ^R) in Abhängigkeit von dem gefilterten Blutvolumen (ml). F gibt die Durchlässigkeit des Filters in % der ursprünglichen Aggregate an.

VIII. Literaturverzeichnis

1. Ashmore, G.P.,
R.L. Swank,
R.Galery,
P. Ambrose,
K.H. Prichard
Effect of dacron wool filtration on the microemboli phenomenon in extracorporeal circulation.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 62:240,1972.
2. Benner, K.U.,
K.E. Frede,
K.L. Lauterjung
In vitro investigations with a new method of continous and quantitative measurements of platelet aggregates in flowing blood.
Pflügers Arch. Physiol. 320:142,1970.
3. Bennett, S.H.,
G.W. Geelhoed,
R.K. Aaron,
R.T. Solis,
R.C. Hoyer
Pulmonary injury resulting from perfusion with stored bankblood in the baboon and dog.
J. Surg. Res. 13: 295,1972.
4. Bergentz, S.E.,
D. Lewis,
U. Ljungquist
The lung during shock accumulation of thrombocytes after trauma and intravasal coagulation.
Arch.klin. Chir. 329:658,1971.
5. Boyan, C.P.,
W.S. Howland
Blood temperature: A critical factor in massive transfusion.
Anaesthesiology 22:559,1961.

6. Boyan, C.P.,
W.S. Howland
Problems related to massive
blood replacement.
Anaesthesiology 22:559,1961.
7. Bube, F.W.
Transfusionsstörungen unter
besonderer Berücksichtigung
der Pathophysiologie.
Bibl. Haematol. 37:129,1971.
8. Burton, G.W.
Some problems of massive
blood transfusion.
Proc. Roy. Soc. Med.
61:682,1968.
9. Churchill-
Davidson, H.C.
Some problems of massive
blood transfusion.
Proc. Roy. Soc. Med.
61:681,1967.
10. Connell, R.S.,
R.L. Swank
Pulmonary microembolism
after blood transfusions:
An electron microscopic
study.
Ann. Surg. 177:40,1973.
11. Cook, N.A.,
W.R. Webb
Pulmonary changes in hemorrha-
gic shock.
Surgery 64:85,1968.

12. Dhall, C.D.,
J. Engeset,
F.N. McKenzie,
N.A. Matheson
Screen Filtration pressure
of blood - An evaluation -.
Cardiovasc. Res. 3:147,1969.
13. Diem, K.,
C. Lentner
Documenta Geigy. Wissenschaft-
liche Tabellen.
Stuttgart: Thieme 1975.
14. Frick, U.,
G. Klein
Gerinnungsanalytische Unter-
suchungen nach Massivtrans-
fusionen.
Zbl. Chir. 100:1372,1975.
15. Goldiner, P.L.,
W.S. Howland,
C. Ray, Jr.
Filter for prevention of
microembolism during massive
transfusions.
Anesth. Analg. 51:717,1972.
16. Graves, C.L.
Massive transfusions.
Int. Anesthesiol. Clin.
5:925,1967.
17. Harp, R.P.,
M.Q. Wyche,
B.E. Marshall,
H.A. Wurzel
Some factors determining
rate of microaggregate
formation in stored blood.
Anesthesiology 40:398,1974.

23. Hoyer, J.,
L. Garbe,
F. Sicardi,
M. Noirclerc
Wirkung von Azetylsalicyl-
säure auf immuninduzierte,
morphologische Thrombozyten-
veränderungen nach experimen-
teller Lungentransplantation.
Zschr. Exp. Chir., im Druck.
24. Hoyer, J.,
G. Lebreuil,
F. Sicardi,
M. Noirclerc
Effects of experimental lung
transplantation on blood
coagulation and platelets.
Europ. Surg. Res. 6:110, 1974.
25. Hyland, J.W.,
T.E. Piemme,
S. Alexander,
F.W. Haynes,
G.T. Smith,
L. Dexter
Behaviour of pulmonary
hypertension produced by
serotin and emboli.
Amer. J. Physiol. 209:591, 1963.
26. Isselhard, W.
Vergleich des Herzstoffwech-
sels bei verschiedenen Metho-
den des künstlichen Herzstill-
standes und bei anschließen-
der Perfusion, mit Untersu-
chungen über die Beeinträchti-
gung der extrakorporalen Per-
fusion durch Blutveränderungen,
ihrer Entstehungsbedingungen
und Beseitigung.
Köln, Med. Hab.-Schr. 1964.

32. Ljungquist, U., The effect of experimental
S.E. Bergentz trauma of the platelets.
Acta Chir. Scand. 236:271, 1970.
33. Malz, H., Probleme bei Massivtrans-
H. Zöckler fusionen.
Anaesthesiol. Inform.
15: 16, 1974.
34. Marx, R. Über den Einfluß der Ery-
throzyten auf die Thrombo-
zytenadhäsion und -agglome-
ration.
Folia Haematol. 6:337, 1961.
35. Messmer, K. Hemodilution.
Surg. Clin. North Am.
55:659, 1975.
36. Messmer, K., Acute normovolemic hemodilu-
D.H. Lewis, tion. Changes of central
L. Sunder- hemodynamics and microcircu-
Plassmann latory flow in skeletal
W.P. Mandler, muscle.
K. Holper Eur. Surg. Res. 4:55, 1972.
37. Miller, R.D., Coagulation defects associa-
T.O. Robbins, ted with massive blood trans-
M.J. Tong, fusions.
S.L. Barton Ann. Surg. 174:794, 1971.

38. Miller, R.D., Effects of massive transfu-
M.J. Tone, sions of blood on acid-base
T.D. Robbins balance.
J. Amer. Med. Assoc.
216:1762,1971.
39. Mc Namara,J.J., Effective filtration of
E.L. Burran, banked blood.
G. Suehiro Surgery 71:594,1972.
40. Mc Namara,J.J., Effect of debris in stored
E.L. Burran, blood on pulmonary micro-
E. Larson, vasculature.
G. Omiya, Ann. Thorac. Surg.
G. Suehiro, 14:133,1972.
H. Yamase
41. Mc Namara,J.J., Screen filtration pressure
M.D. Molot, in combat casualties.
J. Stremple Ann. Surg. 172:334,1970.
42. Otteni, J.C., Gerinnungsstörungen bei
J.P. Haberer, Massivtransfusionen.
P. Hug, Zbl. Chir. 100:1352,1975.
F. Oberling
43. Pearlstein,A.T., Pulmonary Hypersensitivity
Reaction.
NY State J. Med.71:2683,1971.

44. Pirkle, H.C., Death can results from
P. Carstens platelets clogging small
pulmonary arteries.
J. Amer. Med. Assoc.
231:1325, 1975.
45. Preuner, R. Die Gefahren bei der Trans-
fusion konservierten Blutes.
Dtsch. Med. Wschr. 87:678, 1962.
46. Ratliff, N.B., The lung in hemorrhagic
J.W. Wilson, shock.
D.B. Hackel, Amer. J. Pathol. 58:353, 1970.
A.M. Martin
47. Schechter, D.C., Extracellular changes in
B.C. Paton, stored blood.
H. Swan Arch. Surg. 84:358, 1962.
48. Schroll, H., Erfahrungen mit Warmblut-
V. Feuerstein transfusionen bei massiven
Blutübertragungen.
Anaesthesist 18:272, 1969.
49. Stoeckel, H., Zur Problematik der Massiv-
B. Stober transfusion bei ACD-Blut.
Prakt. Anaesth. Wiederb.
4:237, 1970.

50. Swank, R.L. Alteration of blood on
storage: Measurement of
adhesiveness of "Aging "
platelets and leucocytes
and their removal by filtra-
tion.
New England J. Med.
265:728, 1961.
51. Swank, R.L. Adhesiveness of platelets
and leukocytes during acute
exanguination.
Amer. J. Physiol. 202:261, 1964.
52. Swank, R.L., Alteration of blood during
W.H. Isselhard, acute hypotension: Effect of
W. Hissen, continuous glass wool filtra-
H. Merguet tion.
Circul. Res. 14:97, 1964.
53. Turpini, R., The nature and mechanism of
M. Stefanini hemostatic breakdown in the
course of experimental hemorrha-
gic shock.
J. Clin. Invest. 38:53, 1959.
54. Wilson, R.F., Eight years experience with
E. Mammen, massive blood transfusions.
A.J. Walt J. Trauma 11:275, 1971.

Lebenslauf

Am 20.3.1950 wurde ich, Helga Christine H ü b n e r, als Tochter des derzeitigen Professors der Rechte, Dr. Heinz Hübner und seiner Ehefrau Gerda, geb. Wiedemann, in Erlangen geboren. Von 1956 bis 1960 besuchte ich die Bruchwiesen-Schule in Saarbrücken. Danach wurde ich in den altsprachlichen Zweig der Staatlichen-Hildegard-von-Bingen-Schule in Köln umgeschult, an der ich am 6.6.1969 die Reifeprüfung ablegte.

Mein Studium begann ich im Wintersemester 1969/70 an der Universität Kiel, wo ich am 1.4.1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 6.4.1972 die ärztliche Vorprüfung bestand. Während des Wintersemesters 1972/73 studierte ich an der Universität Wien. Zum Sommersemester 1973 wechselte ich an die Technische Universität München, an der ich am 11.7.1975 die ärztliche Prüfung absolvierte. Als Medizinalassistentin war ich an der Chirurgischen Klinik der Universität München und an der Medizinischen Klinik I der Universität München, Klinikum Großhadern, tätig.

